基础研究

连续多次应用丙泊酚复合维生素C对小鼠麻醉效应的影响

郭梦倬[1],李伟光[2],刘 旭[1],冯泽国[1],张成岗[2],吴芳勇[1],黄连军[1],于颖群[3]
[1]解放军总医院麻醉手术中心,北京 100853;[2]军事医学科学院放射与辐射医学研究所,北京 100850;[3]解放军第307医院麻醉科,北京 100071

摘要:目的 探讨连续6 d给予丙泊酚或丙泊酚配伍维生素C对小鼠的麻醉效果。**方法** 取40只昆明鼠随机分为丙泊酚80 mg/kg组(P80组)、丙泊酚70 mg/kg+维生素C50 mg/kg组(P70+Vc50组)、丙泊酚55 mg/kg+维生素C100 mg/kg组(P55+Vc100组)、丙泊酚50 mg/kg+维生素C200 mg/kg组(P50+Vc200组),共4组,各组小鼠10只,以腹腔注射给药的方式,在同一时间点连续6 d给药,观察并记录小鼠麻醉诱导时间以及维持时间,并进行比较。**结果** 与同天的丙泊酚组(P80)相比,给药的第1、2、3天的P55+Vc100组、P50+Vc200组麻醉维持时间缩短($P<0.05$)。与同一组第1天麻醉维持时间相比,各组小鼠其余5 d麻醉维持时间均缩短($P<0.01$);与同一组第2天麻醉维持时间相比,第3天P50+Vc200组麻醉维持时间缩短($P<0.01$),各组小鼠第4、5、6天麻醉维持时间均缩短($P<0.01$)。各组小鼠翻正反射消失的发生率由第1~6天逐渐下降,且各组趋势接近一致。**结论** 维生素C与丙泊酚配伍,可在保证麻醉效果的前提下一定程度减少丙泊酚使用剂量,同时可减少丙泊酚耐受的发生,对于减少丙泊酚麻醉剂量相关的副作用或不良反应。
关键词:丙泊酚;维生素C;麻醉;翻正反射消失

Anesthetic effects of repeated dosing with propofol and vitamin C in mice

GUO Mengzhuo[1], LI Weiguang[2], LIU Xu[1], FENG Zeguo[1], ZHANG Chenggang[2], WU Fangyong[1], HUANG Lianjun[1], YU Yingqun[3]
[1]Anesthesia and Operation Center, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China; [2]Beijing Institute of Radiation Medicine, Academy of military Medical Science, Beijing 100850, China; [3]Department of Anesthesiology, 307 Hospital of PLA, Beijing 100071, China

Abstract: Objective To explore the anesthetic effects of repeated administration of propofol combined with vitamin C in mice. **Methods** Forty mice were subjected to daily intraperitoneal injections of 80 mg/kg propofol (P80 group), 70 mg/kg propofol and 50 mg/kg vitamin C (P70+Vc50 group), 55 mg/kg propofol and 100 mg/kg vitamin C (P55+Vc100 group), or 50 mg/kg propofol and 200 mg/kg vitamin C (P50+Vc200 group) for 6 consecutive days, and the anesthesia induction time and anesthesia duration were recorded. **Results** Compared with the P80 group, the mice in P55 + Vc100 group and P50 + Vc200 group showed significantly shorter anesthesia duration on the first 3 days ($P<0.05$). In all the groups, anesthesia duration was significantly shortened in the following days compared with that on day 1 ($P<0.01$); anesthesia duration was shorter on day 3 than on day 2 in P50 + Vc200 group ($P<0.01$), and was shorter on days 4, 5, and 6 than on day 2 in all the groups ($P<0.01$). In all the groups, the rate of loss of righting reflex (LORR) decreased gradually with time in a similar pattern. **Conclusions** Vitamin C can reduce the dose of propofol without obviously affecting the anesthetic effect to reduce the incidence of drug tolerance and potential dose-related side effects of propofol.
Key words: propofol; vitamin C; anesthesia; loss of righting reflex

丙泊酚输注综合征(PRIS)易发生于长时间、大剂量输注丙泊酚的患者,其主要表现为代谢性酸中毒、高脂血症、横纹肌溶解和急性肾衰、难治性的心力衰竭等严重并发症,甚至可导致死亡[1-2]。临床上针对此类情况并无有效的解决方法,如果能通过合理配伍用药降低丙泊酚的使用剂量,从而在长时间使用丙泊酚的情况下降低丙泊酚的总量,可能会使PRIS的发生概率降低[3]。同时,目前关于连续多次使用丙泊酚对麻醉诱导时间及麻醉维持时间影响的研究并不多见[4-5]。本实验通过多次给予丙泊酚或丙泊酚复合维生素C(Vc)等效剂量阈值组合观察其对小鼠的一般情况、翻正反射出现及消失时间的影响,模拟临床上长时间的丙泊酚输注,以期为优化长时间大剂量输注丙泊酚的临床用药方案提供实验依据[6]。

收稿日期:2015-10-07
基金项目:国家自然科学基金(81371232);国家科技重大专项(2014ZX09J14107-05B)
Supported by National Natural Science Foundation of China (81371232), Special Key Programs for Science and Technology of China (2014ZX09J14107-05B).
作者简介:郭梦倬,硕士研究生,E-mail: gmz_1125@163.com
通信作者:冯泽国,硕士生导师,主任医师,E-mail: beijing_301@sina.com; 张成岗,博士生导师,研究员,电话:010-66931590, E-mail: zhangcg@bmi.ac.cn

1 材料和方法

1.1 实验动物

6~8周龄健康雄性昆明小鼠40只(由军事医学科学院提供,SPF级,许可证号:SCXK-(军)2012-004),分笼饲养,适应环境1周,体质量(21±2.58) g,室温21~25 ℃,湿度60%~70%,自由饮水和进食,每日固定时间进行实验(13:00~15:00),并保持实验室环境安静。

1.2 主要试剂

丙泊酚注射液(规格:10 mg/mL,意大利阿斯利康公司,批号KH041106),维生素C (Sigma-Aldrich, USA,批号WXBB6454V),0.9%生理盐水注射液(石家庄四药有限公司,河北),药品储存条件为4 ℃。

1.3 实验动物分组及处理

采用小鼠催眠诱导模型,40只昆明小鼠随机分为4组,分别为丙泊酚80 mg/kg组(P80组)、丙泊酚70 mg/kg+维生素C50 mg/kg组(P70+Vc50组)、丙泊酚55 mg/kg+维生素C100 mg/kg组(P55+Vc100组)、丙泊酚50 mg/kg+维生素C200 mg/kg组(P50+Vc200组)(n=10),所有药物均在使用前新鲜混合,采用腹腔注射给药的方式,1次/d,连续6 d。

1.4 观察及记录指标

以翻正反射消失(loss of righting reflex, LORR)作为催眠标准,观察并记录麻醉诱导时间以及麻醉维持时间。麻醉诱导时间定义为从腹腔注射麻醉药物开始至小鼠翻正反射在1 min内至少不能恢复2次。直至小鼠自发恢复其翻正反射,翻正反射消失至恢复的时间间隔定义为麻醉维持时间。以ED75和ED50作为翻正反射消失发生率的评价指标,ED75为可使75%的小鼠发生翻正反射消失,ED50可使50%的小鼠发生翻正反射消失。

1.5 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件进行分析,计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用单因素方差分析,P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠一般情况和给药后状况

实验期间小鼠一般情况良好,未发生死亡情况,同一天内各组小鼠体质量差异无统计学意义,且在1周内体质量整体无明显变化。

2.2 各组小鼠连续6 d麻醉诱导时间的变化

表1 各组小鼠连续6 d麻醉诱导时间(min)

Tab.1 Anesthesia induction time in 6 days in each group (*Mean*±*SD*, *n*=10)

Group	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6
P80	4.65±0.90	4.48±0.61	4.71±1.13	3.97±2.15	4.10±0.51	4.49±0.42
P70+Vc50	4.02±0.55	5.22±2.10	4.55±0.71	4.16±0.87	5.17±1.34	5.11±0.64
P55+Vc100	4.06±1.16	4.12±0.96	4.33±0.76	3.54±0.30	4.43±0.77	4.61±0.01
P50+Vc200	4.22±0.66	4.46±0.82	5.39±1.80	4.30±0.20	3.99±0.84	4.40±0.39

P80: Propofol (80 mg/kg) group; P70+Vc50: Propofol (70 mg/kg) combined with vitamin C (50 mg/kg) group; P55+Vc100: Propofol (55 mg/kg) combined with vitamin C (100 mg/kg) group; P50+Vc200: Propofol (50 mg/kg) combined with vitamin C (200 mg/kg) group.

分别比较各组小鼠同一天麻醉诱导时间,均无统计学意义;比较各组小鼠连续6 d麻醉诱导时间,均无统计学意义(P>0.05,表1)。

2.3 各组小鼠连续6 d麻醉维持时间的变化

2.3.1 各组小鼠同一天麻醉维持时间比较 与同一天丙泊酚组(P80组)相比,P70+Vc50组麻醉维持时间均无统计学意义(P>0.05),给药的第1、2、3天的P55+Vc100组、P50+Vc200组麻醉维持时间缩短,差异具有统计学意义(P<0.05),其余4 d的P55+Vc100组、P50+Vc200组麻醉维持时间与丙泊酚组(P80组)相比均无统计学意义(P>0.05);分别比较同一天内各维生素C干预组麻醉诱导时间,均无统计学意义(P>0.05)。

2.3.2 同一组小鼠连续6 d麻醉维持时间比较 与同一组第1天麻醉维持时间相比,各组小鼠其余5 d麻醉维持时间均缩短,差异具有统计学意义(P<0.01);与同一组第2天麻醉维持时间相比,第3天P50+Vc200组麻醉维持时间缩短,差异具有统计学意义(P<0.01),其余3组小鼠第3天麻醉维持时间无统计学差异(P>0.05),各组小鼠第4、5、6天麻醉维持时间均缩短,且差异具有统计学意义(P<0.01);与同一组第3天麻醉维持时间相比,P80组小鼠第4、5、6天麻醉维持时间缩短,差异具有统计学意义(P<0.01),P70+Vc50组小鼠第5、6天麻醉维持时间缩短,差异具有统计学意义(P<0.01),其余2组小鼠第4、5、6天麻醉维持时间无统计学差异(P>0.05);与同一组第4天麻醉维持时间相比,P80组小鼠第6天麻醉维持时间缩短,且差异具有统计学意义(P<0.05),其余3组小鼠第5、6天麻醉维持时间无统计学差异(P>0.05,表2)。

表2 各组小鼠连续6 d麻醉维持时间(min)
Tab.2 Anesthesia duration in 6 days in each group (*Mean±SD*, *n*=10)

Group	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6
P80	33.44±5.65	25.21±3.56[b]	23.22±5.38[b]	15.68±4.95[bcd]	10.50±4.08[bcd]	8.49±3.05[bcde]
P70+Vc50	30.37±2.47	21.86±4.15[b]	17.18±4.80[b]	13.87±6.05[bc]	8.74±4.89[bcd]	7.77±3.11[bcd]
P55+Vc100	27.97±2.37[a]	18.51±3.51[ab]	13.24±3.16[ab]	11.84±7.17[bc]	8.27±3.88[bc]	9.63±3.97[bc]
P50+Vc200	27.58±1.96[a]	18.64±1.85[ab]	11.71±3.39[abc]	10.20±1.79[bc]	10.03±3.62[bc]	11.09±3.20[bc]

[a]$P<0.05$ *vs* P80 group on day 1; [b]$P<0.01$ *vs* day 1; [c]$P<0.01$ *vs* day 2; [d]$P<0.01$ *vs* day 3; [e]$P<0.05$ *vs* day 4.

2.3.3 各组小鼠连续6 d麻醉有效率

各组小鼠在第1天的翻正反射消失发生率可达75%;第2天P80组小鼠翻正反射消失的发生率达75%,其余3组小鼠翻正反射消失的发生率下降,均达50%;第3、4天P80组、P70+Vc50组、P55+Vc100组小鼠翻正反射消失的发生率均达50%,P50+Vc200组小鼠翻正反射消失的发生率降至50%以下;第5天P80组、P70+Vc50组小鼠翻正反射消失的发生率仍达50%,P55+Vc100组、P50+Vc200组小鼠翻正反射消失的发生率均在50%以下;第6天P80组小鼠翻正反射消失的发生率达50%,P70+Vc50组、P55+Vc100组、P50+Vc200组小鼠翻正反射消失的发生率均在50%以下(表3)。

表3 各组小鼠连续6 d麻醉后LORR的发生情况
Tab.3 Rate of loss of righting reflex in 6 consecutive days in each group (*n*=10)

Group	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6
P80	△	△	▲	▲	▲	▲
P70+Vc50	△	▲	▲	▲	▲	-
P55+Vc100	△	▲	▲	▲	-	-
P50+Vc200	△	▲	-	-	-	-

△: Loss of righting reflex in 75% mice; ▲: Loss of righting reflex in 50% mice; -: Loss of righting reflex in less than 50% mice.

3 讨论

丙泊酚作为一种超短效全身静脉麻醉药,因其起效快、苏醒迅速、平稳等特点,已广泛应用于临床各科手术麻醉诱导及维持、复合麻醉和ICU的镇静治疗[7-8]。有相关研究指出丙泊酚可能引起剂量相关的持续性心肌收缩功能下降、平均动脉压降低及血管通透性等方面的改变[9]。在重症监护室中,常需要长时间、大剂量的输注丙泊酚以维持患者镇静,从而可能引起代谢性酸中毒、高脂血症、肝脏脂肪浸润和横纹肌溶解、甚至高钾血症、急性肾功能衰竭、充血性心律失常、心脏传导系统异常、难治性的心力衰竭等严重并发症,甚至导致死亡,即"丙泊酚输注综合征"[10]。有研究表明合理使用辅助麻醉药物可在保证麻醉效果的前提下降低丙泊酚剂量,从而减少其副作用,在一定程度上减少此类问题的发生[12-13]。但诸如咪唑安定、麻醉性镇痛药、β受体阻滞剂等药物的使用可能影响患者精神运动功能、睡眠模式、血流动力学、药代动力学等问题[14]。本课题组前期研究结果提示抗氧化剂对麻醉药物具有增效作用,本研究采用的维生素C与丙泊酚配伍分组即为可使小鼠发生翻正反射的等效剂量阈值组合[6]。维生素C为临床常见的抗氧化剂,其副作用小、费用低,大剂量使用仍有较好安全性,有很好的临床应用前景[15-17]。

药物的联合使用在临床较为常见,围手术期不同类型的药物与丙泊酚合理配伍使用可以增加丙泊酚的麻醉效应,减少丙泊酚的诱导或麻醉维持用量,从而减少丙泊酚麻醉相关的副作用或不良反应,这对于提高麻醉质量具有积极的意义。有研究表明麻醉药物作用于人体产生催眠状态的浓度接近于其作用于啮齿类动物导致翻正反射消失的药物浓度,因此本实验采用小鼠翻正反射消失作为催眠指标[18]。研究结果显示与丙泊酚组相比,维生素C干预组的等效阈值组合的麻醉诱导时间均无统计学差异,P70+Vc50组麻醉维持时间无统计学差异且同一组小鼠连续6 d麻醉维持时间及翻正反射发生率均逐渐下降,各组变化趋势基本一致。结果表明维生素C与麻醉药物的联合使用可在一定程度上减少小鼠丙泊酚麻醉诱导、麻醉维持期间的丙泊酚使用剂量,可在丙泊酚使用剂量减少的情况下达到满意的镇静催眠效果,减少相应的不良反应。

本研究观察到小鼠连续6 d使用丙泊酚或配伍维生素C腹腔注射后麻醉维持时间及翻正反射发生率均逐渐下降,考虑其原因为多次使用丙泊酚产生的耐受性。丙泊酚的药理作用复杂,产生耐受的机制尚未完全释明。其机制可能为:其一,药代动力学,即重复多次使用丙泊酚后,其在体内分布及代谢发生变化,从而导致在随后的药物使用中血药浓度降低;再者因丙泊酚为脂溶性药物,其可在脂肪组织蓄积,这也可能导致丙泊酚出现耐受。其二,药效动力学,指重复使用丙泊酚后体内产生的适应性改变导致机体对其反应性降低,适应性改变主要表现为作用于某条信号通路的受体密度及效能改变。已有研究表明,丙泊酚可通过与$GABA_A$受体

及钙离子通道结合，从而影响神经递质的释放，干扰突触间的信号传递，产生镇静和麻醉作用，但本研究中多次使用丙泊酚产生的耐受性是否与$GABA_A$受体的脱敏有关还有待进一步研究[19-20]。而维生素C与丙泊酚的联合使用可在一定程度上减少小鼠丙泊酚使用剂量，因此对于减少丙泊酚耐受的发生也有积极作用。

综上所述，对于需要长期镇静、短期内需多次手术及手术耗时较长的患者，长时间多次使用丙泊酚可能产生相应的不良反应或药物耐受，而配伍使用维生素C可在保证麻醉效果的前提下一定程度上减少丙泊酚用量，同时可减少丙泊酚耐受的发生，对于减少丙泊酚麻醉剂量相关的副作用或不良反应，有良好的临床应用前景。

参考文献：

[1] Schroeppel TJ, Fabian TC, Clement LP, et al. Propofol infusion syndrome: a lethal condition in critically injured patients eliminated by a simple screening protocol[J]. Injury, 2014, 45(1): 245-9.
[2] Zaccheo MM, Bucher DH. Propofol infusion syndrome: a rare complication with potentially fatal results[J]. Crit Care Nurse, 2008, 28(3): 18-26; quiz 27.
[3] Rajda C, Dereczyk D, Kunkel P. Propofol infusion syndrome[J]. J Trauma Nurs, 2008, 15(3): 118-22.
[4] Yu D, Jiang Y, Gao J, et al. Repeated exposure to propofol potentiates neuroapoptosis and long-term behavioral deficits in neonatal rats[J]. Neurosci Lett, 2013, 534: 41-6.
[5] Mohamadnia AR, Shahbazkia H, Akhlaghi M, et al. Clinical evaluation of repeated propofol total intravenous anesthesia in dog[J]. Pak J Biol Sci, 2008, 11(14): 1820-4.
[6] 仇焕容. 抗氧化剂对静脉麻醉药的增效作用研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2012: 23-4.
[7] 尧新华, 周 朴, 肖珍科, 等. 丙泊酚靶控输注麻醉与七氟醚吸入麻醉用于腹腔镜手术的比较[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(8): 1280-1, 1284.
[8] Ranzani OT, Simpson ES, Augusto TB, et al. Evaluation of a minimal sedation protocol using ICU sedative consumption as a monitoring tool: a quality improvement multicenter project[J]. Crit Care, 2014, 18(5): 580.
[9] 温翔宇, 王 莉. 丙泊酚麻醉期间引起机体低血压的可能机制[J]. 上海医学, 2010, 3(10): 959-61.
[10] Chen L, Lim FA. Propofol infusion syndrome: a rare but lethal complication[J]. Nursing, 2014, 44(12): 11-3.
[11] Liolios A, Guérit JM, Scholtes JL, et al. Propofol infusion syndrome associated with short-term large-dose infusion during surgical anesthesia in an adult[J]. Anesth Analg, 2005, 100(6): 1804-6.
[12] Bhaskar P, Malik A, Kapoor R, et al. Effect of midazolam premedication on the dose of propofol for laryngeal mask airway insertion in children[J]. J Anaesthesiol Clin Pharmacol, 2010, 26(4): 503-6.
[13] Altan A, Turgut N, Yildiz F, et al. Effects of Magnesium sulphate and clonidine on propofol consumption, haemodynamics and postoperative recovery[J]. Br J Anaesth, 2005, 94(4): 438-41.
[14] Yousaf F, Seet E, Venkatraghavan L, et al. Efficacy and safety of melatonin as an anxiolytic and analgesic in the perioperative period: a qualitative systematic review of randomized trials[J]. Anesthesiology, 2010, 113(4): 968-76.
[15] Padayatty SJ, Sun AY, Chen Q, et al. Vitamin C: intravenous use by complementary and alternative medicine practitioners and adverse effects[J]. PLoS One, 2010, 5(7): e11414.
[16] Rezvanjoo B, Rashidi S, Jouyban A, et al. Effects of vitamin C and melatonin on cysteamine-induced duodenal ulcer in a cholestatic rat model: A controlled experimental study[J]. Curr Ther Res Clin Exp, 2010, 71(5): 322-30.
[17] 陈建斌, 饶邦复, 朱治本, 等. 静脉注射大剂量维生素C的药代动力学研究[J]. 重庆医科大学学报, 1995, 20(3): 183-6.
[18] Nguyen HT, Li KY, Dagraca RL, et al. Behavior and cellular evidence for propofol-induced hypnosis involving brain glycine receptors[J]. Anesthesiology, 2009, 110(2): 326-32.
[19] Ypsilantis P, Mikroulis D, Politou M, et al. Tolerance to propofol's sedative effect in mechanically ventilated Rabbits[J]. Anesth Analg, 2006, 103(2): 359-65, table of contents.
[20] 汪 燕, 林春水, 古妙宁, 等. 脑摄取动态平衡时不同麻醉深度丙泊酚对犬脑不同区域γ-氨基丁酸的影响[J]. 南方医科大学学报, 2012, 32(3): 427-9, 431.

（编辑：吴锦雅）